



KONGERIKET NORGE  
The Kingdom of Norway

Bekreftelse på patentsøknad nr  
*Certification of patent application no*

1999 6337

► Det bekreftes herved at vedheftede dokument er nøyaktig utskrift/kopi av ovennevnte søknad, som opprinnelig inngitt 1998.12.23

► *It is hereby certified that the annexed document is a true copy of the above-mentioned application, as originally filed on 1998.12.23*

2003.07.17

*Freddy Strømmen*

Freddy Strømmen  
Seksjonsleder

*Line Reum*

Line Reum



PATENTSTYRET®

Styret for det industrielle rettsvern

1.6

PATENTSTYRET

20.DES99 996337

20 DES. 1999

EK/KBN

17.12.99

E10514

UTSKILT FRA SØKNAD nr. 19986133 av 23/12-1998

Preben Lexow  
Fløensbakken 41A  
5009 Bergen

Oppfinner:

Søkeren

**Fremgangsmåter for sekvensanalyse**

Foreliggende oppfinnelse er utskilt fra patentsøknad 19986133 som omfatter en metode for DNA-sekvensering som inneholder følgende trinn:

Første trinn tar utgangspunkt i en ren DNA-populasjon bestående av DNA-sekvensen som skal sekvenseres. DNA-molekylene kuttet/brekkes på en uspesifikk måte slik at det dannes en populasjon med DNA-molekyler bestående av biter (heretter kalt DNA-biter) av den opprinnelige sekvensen.

Annet trinn består i å erstatte baseparene i DNA-bitene med 4 ulike DNA-sekvenser (heretter kalt DNA-fragmenter) som representerer hver av de fire basene adenin, cytosin, guanin og tymin. Der hvor det har vært basepar A-T, settes det altså inn "fragment A", C-G byttes ut med "fragment C" osv. Dermed genereres nye DNA-molekyler hvor den opprinnelige baserekkefølgen på f.eks. ACGTT... erstattes med fragment A - fragment C - fragment G osv. Lengden på disse fire DNA-fragmentene kan i prinsippet variere i lengde fra 2bp til flere hundre kbp (eller mer om ønskelig), alt etter behov. Tilsvarende kan DNA-fragmentene inneholde reportergener og annen biologisk informasjon eller kun bestå av sekvenser uten kjent biologisk funksjon.

I tredje trinn avleses rekkefølgen av de fire typene DNA-fragmenter for hvert enkelt DNA-molekyl. Dermed finner man baserekkefølgen i de opprinnelige DNA-bitene indirekte.

I fjerde trinn benytter et dataprogram overlappen mellom DNA-bitene til å sette sammen informasjonen fra trinn 3 til sekvensen på DNA-sekvensene som ble brukt som utgangspunkt.

Foreliggende oppfinnelse omhandler fremgangsmåter for sekvensanalyse.

### Definisjon av konvertering:

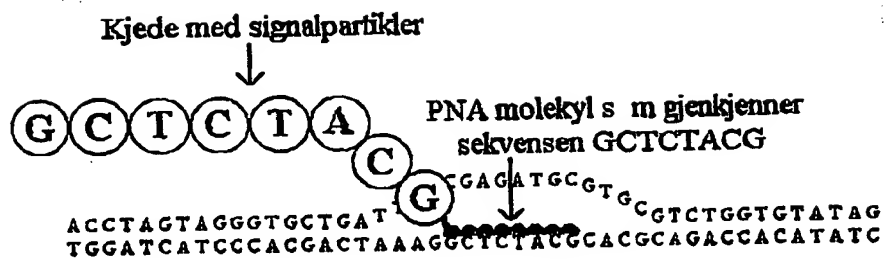
I tidligere innsendte utdypninger defineres konvertering som det å erstatte et eller flere basepar med lengre DNA sekvenser (fragmenter). Det må imidlertid tilføyes at baseparene også kan erstattes med andre molekyler/ partikler enn DNA. F.eks. kan man bruke en kjede med ulike fluorescerende mikrosfærer hvor rekkefølgen tilsvarer sekvensen som har blitt konvertert. Ordet «erstatte» er dessuten upresist da man ikke behøver å fjerne sekvensen som konverteres. En mer presis definisjon av konvertering blir da:

Å konvertere en sekvensbit vil si å feste et eller flere signaler til sekvensbiten/ evt å erstatte sekvensbiten helt eller delvis med et eller flere signaler. Signalene kan være partikler med egenskaper som gjør dem lette å detektere, f.eks. fluorescens, elektrisk ladning, magnetiske/ paramagnetiske egenskaper eller størrelse. Signalene inneholder informasjon om sekvensbiten som er konvertert.

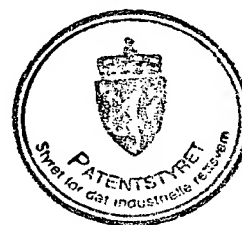
Signalene kan også være lengder. F.eks. kan man bruke en optical mapping strategi hvor hvert fragment består av en viss lengde som avsluttes med et eller mange like kuttsetter. Ytterligere variasjon får man ved å bruke ulike restriksjons endonukleaser og å scanne platen mellom hvert enzym som brukes. Dermed kan man både mappe og lese sekvensbiter samtidig.

### Trinn2: konverteringsmetoder

I tidligere innsendte innlegg har jeg vist ulike konverteringsstrategier som har vært basert på spesifikk gjenkjennelse av baser ved hjelp av Watson-Crick baseparring eller proteiner som gjenkjenner spesifikke sekvenser. Det må imidlertid presiseres at basene også kan gjenkjennes på andre måter, f.eks. ved å bruke PNA. PNA har bl.a. evnen til å gjenkjenne basepar i dsDNA. Konverteringen kan f.eks. bestå av en kort sekvens med PNA som gjenkjenner noen få basepar. Samtidig er det festet signalpartikler som tilsvarer sekvensbiten til PNA kjeden:



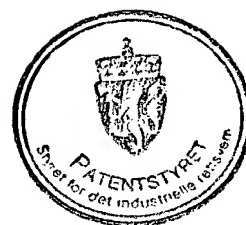
**Fig1** Eksempel på bruk av PNA til konvertering. Et PNA molekyl som gjenkjenner sekvensen GCTCTACG hybridiseres til et dsDNA molekyl. Når DNA molekylet rettes ut kan man se hvor sekvensbiten befinner seg på DNA molekylet ved å registrere lokalisasjonen til signalpartiklene som er festet til PNA molekylet i forhold til et fast referansepunkt på DNA molekylet (DNA enden, andre signalpartikler, o.l.).



## P a t e n t k r a v

1.

Fremgangsmåter for sekvensanalyse, k a r a k t e r i s e r t  
v e d beskrivelsen.



1e

20 DES. 1999

Sammendrag

O. nr. E10514

Fremgangsmåter for sekvensanalyse.

